

HUBUNGAN ANTARA KEBERADAAN GEN MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX CLASS II (MHC-II), KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT, DAN PERTUMBUHAN PADA POPULASI IKAN MAS STRAIN RAJADANU

Didik Ariyanto^{*)#}, Erma Pramanita Hayuningtyas^{*)}, dan Khairul Syahputra^{*)}

^{*)} Balai Penelitian Pemuliaan Ikan

^{*)} Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias

(Naskah diterima: 2 April 2014; Revisi final: 6 November 2015; Disetujui publikasi: 9 November 2015)

ABSTRAK

Pengembangan budidaya ikan mas di Indonesia mengalami kendala serius sejak timbulnya penyakit *koi herpes virus* (KHV) pada tahun 2002. Salah satu pendekatan yang dipakai dalam rangka mengantisipasi penyakit tersebut adalah perbaikan mutu genetik untuk mendapatkan varietas unggul ikan mas tahan KHV melalui seleksi berbantuan marka molekuler (MAS; *Marker Assisted selection*). Keberadaan gen *Major Histocompatibility Complex Class II* (MHC-II) diduga berkaitan erat dengan peningkatan daya tahan tubuh ikan mas terhadap penyakit. Di sisi lain, populasi ikan dengan daya tahan terhadap penyakit yang tinggi diduga mempunyai laju pertumbuhan lebih lambat. Penelitian ini bertujuan mengetahui empat hal, yaitu (1) transmisi gen MHC-II dari induk ke anaknya, (2) hubungan antara keberadaan gen MHC-II dengan daya tahan terhadap penyakit, (3) hubungan antara daya tahan terhadap penyakit dengan pertumbuhan, serta (4) pengaruh keberadaan gen MHC-II pada ikan mas terhadap performa benih di lingkungan budidaya. Benih uji diperoleh dari pemijahan induk jantan dan betina ikan mas strain Rajadanu positif MHC-II, serta induk jantan dan betina negatif MHC-II. Analisis gen MHC-II dilakukan menggunakan mesin PCR, analisis daya tahan terhadap penyakit melalui ujiantang secara kohabitasi, dan analisis hubungan daya tahan dengan pertumbuhan dilakukan di kolam air deras di daerah endemik KHV, yaitu di Subang, Jawa Barat selama tiga bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina positif MHC-II mempunyai persentase MHC-II sebesar 90%, lebih banyak dibanding populasi hasil pemijahan induk jantan dan betina negatif MHC-II sebesar 40%. Berdasarkan ujiantang, populasi positif MHC-II mempunyai daya tahan terhadap infeksi KHV 8,95% lebih tinggi dibanding populasi negatif MHC-II. Hasil pengujian secara lapang di daerah endemik KHV juga menunjukkan pola hasil yang sama, yaitu populasi positif MHC-II mempunyai sintasan 41,61% lebih baik dibanding populasi negatif MHC-II. Analisis hubungan antara keberadaan gen MHC-II sebagai indikasi ketahanan terhadap penyakit khususnya KHV dengan pertumbuhan di kolam air tenang maupun kolam air deras menunjukkan bahwa populasi ikan mas Rajadanu dengan persentase MHC-II lebih tinggi mempunyai sintasan lebih tinggi tetapi mempunyai laju pertumbuhan lebih lambat.

KATA KUNCI: ikan mas, gen MHC, ketahanan terhadap KHV, pertumbuhan

ABSTRACT: *The relationship between MHC gene presented in Rajadanu strain of common carp with its resistance to disease and growth. By: Didik Ariyanto, Erma Pramanita Hayuningtyas, and Khairul Syahputra*

Development of common carp culture in Indonesia has a serious constrain since specific disease koi herpes virus (KHV) was outbreak in 2002. Marker assisted selection (MAS) was developed in genetic improvement program to get the resistance line of common carp to KHV. MHC gene was proposed as the molekuler marker for resistance fish to disease. In the other hand, the resistance fish which used in aquaculture were suspected had a low growth. This study was conducted to know: 1) the transmission of MHC gen from the parent to its off-spring of Rajadanu common carp strain; 2) the relationship between MHC gene presented in Rajadanu common carp strain with its resistance to spesific disease of KHV; 3) the relationship between resistance to KHV with the growth of Rajadanu common carp strain, and 4) the

Korespondensi: Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Jl. Raya 2 Pantura Sukamandi, Patokbeusi, Subang 41263, Jawa Barat, Indonesia. Tel.: + (0260) 520662
E-mail: didik_ski@yahoo.com

affected of MHC gene presented in Rajadanu common carp strain to its performance in aquaculture. The fish used in this experiment were obtained from mating of positive MHC male and female brood-stock and also negative MHC male and female brood-stock. MHC gene analyzed with polymerase chain reaction (PCR) techniques. The resistance to KHV of the fish was analyzed from the challenge test data. Both of the relationship between MHC gene with the growth and the effect of MHC gene to the performance of fish analysis were conducted in running water ponds in Subang district, as the endemic areas of KHV. The results showed that 90% of the off-spring from positive MHC male and female brood-stock were positive MHC but only 45% of the off-spring from negative MHC male and female brood-stock were positive MHC. Based on the challenge test to KHV, the positive MHC population had higher survival rate (93.33%) than the negative MHC population (85.66%). The similar result was obtained from the running water ponds culture in endemic of KHV areas, which had survival rate 24.13% for the positive MHC population and 17.04% for negative MHC population. Relationship analysis between MHC gene present with growth character showed that Rajadanu common carp strain which positive MHC and higher resistance to KHV population had lower growth than the negative MHC and lower resistance to KHV population.

KEYWORDS: common carp, MHC gene, resistance to KHV, growth

PENDAHULUAN

Budidaya ikan mas (*Cyprinus carpio*) di Indonesia telah di mulai sejak akhir abad ke-19. Selama kurun waktu tersebut sampai sekarang budidaya ikan mas terus berlangsung bahkan semakin berkembang. Ikan mas merupakan komoditas yang cukup banyak diproduksi oleh pembudidaya pada luasan hampir di seluruh wilayah Indonesia dan telah memberikan kontribusi ekonomi cukup besar. Hal ini tercermin dari angka produksi ikan mas yang menduduki urutan pertama dari produksi ikan hasil budidaya air tawar pada skala nasional selama kurun waktu 1992-1997. Pada tahun 1996 produksi ikan mas menduduki peringkat pertama dari total produksi nasional ikan hasil budidaya dengan kontribusi sebesar 54,3% dari jumlah produksi nasional sebesar 328.475 ton atau setara dengan 178.362 ton (Anonim, 1999). Namun demikian, timbulnya wabah penyakit yang disebabkan oleh virus (*Koi Herpes Virus*, KHV) pada sekitar tahun 2002 membuat usaha budidaya ikan mas mengalami penurunan yang sangat drastis.

Dalam rangka mengantisipasi serangan wabah KHV, serta meningkatkan produksi pada kegiatan budidaya ikan mas, telah dilakukan penyusunan program *selective breeding* di Balai Penelitian Pemuliaan Ikan, Sukamandi sejak tahun 2010. Tujuan akhir program tersebut adalah mendapatkan varietas unggul ikan mas tahan KHV. Koleksi lima populasi ikan mas yang dominan di sentra-sentra budidaya di Jawa Barat, yakni ikan mas strain Majalaya (Bandung), Rajadanu dan Sutisna (Kuningan), Wildan (Cianjur), dan Sinyonya (Pandeglang) telah dilakukan sebagai langkah awal (Ariyanto *et al.*, 2010a). Hasil evaluasi awal terhadap daya tahan kelima strain ikan mas tersebut terhadap KHV menunjukkan bahwa strain Rajadanu mempunyai daya tahan terhadap KHV relatif lebih baik dibanding strain lainnya (Ariyanto *et al.*, 2010b). Berdasarkan hasil evaluasi tersebut, selanjutnya dibentuk populasi dasar (G-0) ikan mas sebagai bahan dasar pembentukan ikan mas tahan KHV. Populasi dasar (G-0) ini terdiri atas

individu-individu hasil seleksi berdasarkan marka molekuler *Major Histocompatibility Complex* (MHC) sebagai gen penyandi daya tahan terhadap penyakit (Rakus *et al.*, 2008) pada 20 famili ikan mas Rajadanu yang bersifat *full-sib* (Ariyanto *et al.*, 2010c).

Selain karakter daya tahan terhadap penyakit yang selanjutnya berdampak terhadap tingkat kelangsungan hidup (sintasan), salah satu faktor lain yang terkait erat dengan produksi ikan budidaya adalah pertumbuhan. Kedua faktor tersebut (sintasan dan pertumbuhan) diduga mempunyai korelasi yang kuat terhadap daya hasil (produksi) suatu populasi ikan budidaya. Penelitian ini bertujuan mengetahui transmisi gen MHC dari tetua ikan mas ke anaknya, serta hubungan antara keberadaan gen MHC pada ikan mas dengan daya tahan terhadap infeksi penyakit koi herpes virus dan pertumbuhan.

BAHAN DAN METODE

Bahan utama penelitian adalah populasi anakan ikan mas strain Rajadanu hasil pemijahan induk-induk terseleksi pada populasi G-0. Jumlah induk yang dipijahkan sebanyak empat pasang, terdiri atas dua pasang induk positif MHC dan dua pasang induk negatif MHC. Pemijahan dilakukan menggunakan metode pemijahan buatan mengikuti SOP pemijahan pada protokol pemuliaan ikan mas yang dikeluarkan oleh Pusat Pengembangan Induk Ikan Mas Nasional (Anonim, 2010a). Pemeliharaan larva dan pendederan benih juga dilakukan sesuai dengan SOP pemeliharaan larva dan pendederan ikan mas pada protokol pemuliaan ikan mas yang dikeluarkan oleh Pusat Pengembangan Induk Ikan Mas Nasional (Anonim, 2010b).

Percobaan dibagi menjadi empat tahap, yaitu 1) evaluasi transmisi gen MHC dari tetua ikan mas ke anakan; 2) evaluasi daya tahan benih ikan mas positif MHC terhadap infeksi penyakit KHV melalui uji tantang; 3) evaluasi hubungan antara pertumbuhan dengan keberadaan gen MHC dan 4) evaluasi keragaan benih ikan mas di lingkungan budidaya.

Transmisi Gen MHC dari Tetua ke Anakan Ikan Mas

Tahap pertama ini dilakukan untuk mengetahui persentase anakan ikan mas yang membawa gen MHC sebagai penyandi daya tahan terhadap penyakit. Ikan uji adalah benih ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina positif MHC, serta induk jantan dan betina negatif MHC, berumur tiga bulan dengan bobot 10-12 g/ekor. Jumlah sampel sebanyak 40 ekor setiap populasi. Analisis gen MHC dilakukan melalui melalui tiga tahapan, yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA dalam mesin PCR, dan elektroforesis DNA dalam media gel.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode ekstraksi DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen). DNA sampel diekstrak dari organ sirip yang sudah dihancurkan sebanyak 5-10 mg. Secara umum, metodologi yang dilakukan mengikuti prosedur dari Qiagen.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA sampel pada mesin PCR dilakukan dengan kit *Maxima Hot Start Green PCR master Mix (2X)* (Fermentas, Thermo Scientific). Komposisi pereaksi PCR diantaranya adalah: 1 μ L *primer forward* (CTAATGGATACTACTGG), 1 μ L *primer reverse* (ATCGCTGACTGTCTGTT) (Sucipto, 2011), 1 μ L DNA (450 μ g/mL) dan nuclease free water sampai total volume 25 μ L. PCR dilakukan menggunakan *thermocycler gradient* (Esco), dengan program terdiri atas denaturasi awal pada suhu 95°C selama tiga menit, 30 siklus selanjutnya terdiri atas denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 49,1°C selama 30 detik dan *extension* pada suhu 72°C selama satu menit. Program diakhiri dengan *final extension* pada suhu 72°C selama tujuh menit dan pengkondisian akhir pada suhu 4°C. Hasil PCR dapat langsung dielektroforesis atau disimpan dalam *freezer*. Sebagai kontrol internal digunakan gen β -aktin ikan mas dengan panjang fragmen 300 bp, primer yang digunakan adalah F: 5'-CCC TGG CCC CCA GCA CAA TG-3' dan R: 5'-TCT GCG CAG TTG AGT CGG CG-3'.

Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan pada gel agarosa dengan konsentrasi sebesar 1,5%. Bahan utama berupa 5 μ L produk PCR yang sudah terdapat *loading dye* di dalamnya. Deretan produk PCR yang sudah di-*loading* di-*running* bersamaan dengan *leader marker* ukuran 100 bp sebanyak 4 μ L. Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan arus listrik 80 V selama 35 menit. Individu yang membawa gen MHC akan terlihat pada pita (*band*) hasil elektroforesis pada ukuran 300 bp. Berdasarkan hasil tersebut, jumlah individu positif MHC pada masing-masing populasi dapat dihitung.

Evaluasi Daya Tahan Benih Ikan Mas Terhadap Infeksi KHV

Evaluasi daya tahan benih ikan mas terhadap KHV dilakukan untuk mengetahui pengaruh keberadaan gen MHC pada induk yang diturunkan kepada anaknya terhadap daya tahan benih dalam menghadapi infeksi KHV. Ikan uji adalah benih ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina positif MHC, serta induk jantan dan betina negatif MHC, berumur tiga bulan dengan bobot 10-12 g/ekor. Evaluasi daya tahan infeksi KHV dilakukan melalui ujiantang secara laboratoris menggunakan metode kohabitasi, mengikuti prosedur dalam protokol kegiatan pemuliaan ikan mas (Anonim, 2010b). Wadah ujiantang berupa enam unit akuarium berukuran 60 cm x 40 cm x 40 cm yang diisi air 30 L/akuarium. Setiap akuarium diisi 30 ekor ikan uji ditambah ikan sumber KHV sebanyak 10% dari jumlah ikan uji. Ikan uji yang digunakan harus memiliki status kesehatan bebas dari KHV, serta bebas dari parasit dan bakteri. Jika positif KHV ikan tidak bisa digunakan, sementara jika terinfeksi bakteri dan parasit harus disembuhkan terlebih dahulu.

Sebelum pelaksanaan ujiantang, yang dilakukan adalah menyiapkan *filtrate homogenete* KHV. *Filtrat homogenete* KHV diperoleh dari insang ikan mas yang terinfeksi KHV yang dihancurkan, kemudian di-*centrifuge* selama 15 menit pada kecepatan 5.000 rpm lalu disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 mm. Langkah kedua adalah menyediakan ikan sumber KHV dengan cara menginjeksikan *filtrate homogenete* KHV dengan dosis 0,1 mL/ekor ke tubuh benih ikan mas yang sehat. Setelah diinjeksi dengan *filtrate homogenete* KHV, calon ikan sumber KHV dipelihara pada akuarium dengan air bersuhu rendah berkisar 21°C-23°C. Suhu air tersebut sesuai dengan media perkembangan penyakit KHV. Ikan yang memiliki gejala klinis terinfeksi KHV diverifikasi secara molekuler untuk memastikan terinfeksi KHV. Ikan yang positif terinfeksi KHV dipisahkan dan diberi penandaan berupa pemotongan sirip ekor untuk membedakan dengan ikan uji pada waktu ujiantang dilaksanakan.

Selain menyediakan ikan sumber KHV, benih uji disiapkan sebelum pelaksanaan ujiantang melalui aklimatisasi pada suhu 21°C-23°C selama 1-2 hari. Suhu air pada akuarium ujiantang juga dikondisikan pada suhu yang permisif bagi berkembangnya virus KHV, berkisar antara 21°C-23°C. Setelah proses aklimatisasi, ikan uji dan ikan sumber KHV secara bersamaan dimasukkan ke dalam akuarium uji. Ujiantang dilakukan selama 21 hari pemeliharaan. Selama masa ujiantang, ikan diberi pakan secukupnya untuk dapat bertahan hidup. Ikan uji yang mengalami kematian dengan gejala klinis terserang

KHV diverifikasi secara molekuler untuk memastikan terinfeksi KHV. Penyiponan untuk membuang sisa pakan dan kotoran, serta penggantian air selama masa uji tangant dilakukan setiap hari untuk menjaga kualitas air media pemeliharaan tetap dalam kisaran yang baik bagi ikan. Parameter utama yang diamati adalah tingkat sintasan kedua populasi benih pada akhir kegiatan.

Evaluasi Hubungan Antara Pertumbuhan dengan Keberadaan Gen MHC

Evaluasi hubungan pertumbuhan dengan keberadaan gen MHC dilakukan di kolam tanah ukuran 400 m² dengan kepadatan 10 ekor/m². Benih uji merupakan benih hasil pemijahan induk jantan dan betina positif MHC, berumur tiga bulan dengan bobot 10-12 g/ekor. Selama empat bulan pemeliharaan, ikan diberi pakan buatan berbentuk pelet dengan kandungan protein kasar 28%. Pemberian pakan sebanyak 3% dari biomassa per hari dilakukan dua kali, yaitu pada waktu pagi (09.00) dan sore (16.00). Pada akhir bulan ke-4 dilakukan panen terhadap ikan yang dipelihara, selanjutnya dilakukan pemilihan individu ikan untuk dikelompokkan menjadi dua. Kelompok pertama adalah 20% ikan berukuran terbesar dengan bobot individu 544,43 ± 39,24 g/ekor dan kelompok kedua adalah 20% ikan dengan ukuran terkecil dengan bobot individu 119,36 ± 33,02 g/ekor. Kelompok ikan ukuran besar merepresentasikan ikan-ikan dengan pertumbuhan cepat sedangkan kelompok ukuran kecil merepresentasikan ikan-ikan dengan pertumbuhan lambat. Sebanyak 28 ekor individu dari masing-masing kelompok diambil secara acak yang terbagi dalam empat sub kelompok sebagai ulangan untuk analisis keberadaan gen MHC. Analisis gen MHC menggunakan metode yang sama dengan analisis MHC pada tahap evaluasi transmisi gen. Pada akhir kegiatan, dihitung persentase individu positif MHC dari masing-masing ulangan, baik pada kelompok ikan berukuran besar maupun kecil.

Evaluasi Keragaan Benih Ikan Mas di Lingkungan Budidaya

Evaluasi keragaan benih ikan mas di lingkungan budidaya dimaksudkan untuk mengevaluasi pertumbuhan, serta daya tahan benih terhadap penyakit. Evaluasi keragaan benih dilakukan di kolam air deras di daerah Subang yang endemik wabah penyakit KHV. Benih uji adalah benih ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina positif MHC. Sebagai pembanding digunakan benih ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina negatif MHC. Pemeliharaan ikan dilakukan menggunakan kantong jaring ukuran 2,5 m x 2,5 m x 1,5 m dengan kepadatan

50 ekor/m². Pemeliharaan kedua populasi benih ikan dilakukan dengan tiga kali ulangan. Selama tiga bulan pemeliharaan, benih ikan diberi pakan buatan komersil dengan kandungan protein kasar 28% sebanyak 7,5%; 5%; dan 2,5% per hari berturut-turut dari bulan 1, 2, dan 3. Pemberian pakan diberikan dua kali sehari setiap pagi dan sore. Pada akhir bulan ketiga, dilakukan panen terhadap semua benih. Parameter yang diamati adalah bobot rata-rata individu, sintasan, serta biomassa total panen.

Analisis Data

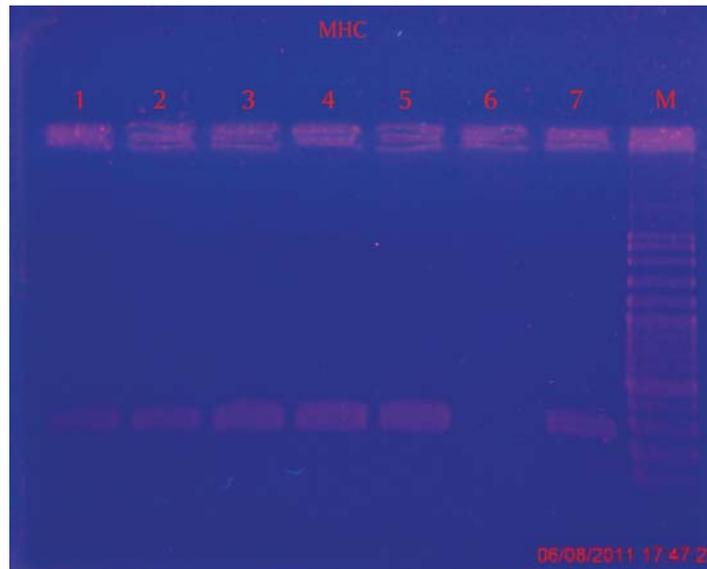
Tingkat sintasan hasil uji tangant benih ikan mas dianalisis menggunakan uji t pada taraf $\beta = 0,05$. Data hubungan antara pertumbuhan dengan persentase individu yang membawa gen MHC dianalisis dengan analisis korelasi dan regresi, sedangkan nilai transmisi gen MHC dari induk ke anaknya dan keragaan benih ikan mas pada media budidaya dianalisis secara deskriptif. Tabulasi dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer Excell[®] for Windows[®] 2007.

HASIL DAN BAHASAN

Transmisi Gen MHC pada Induk ke Anaknya

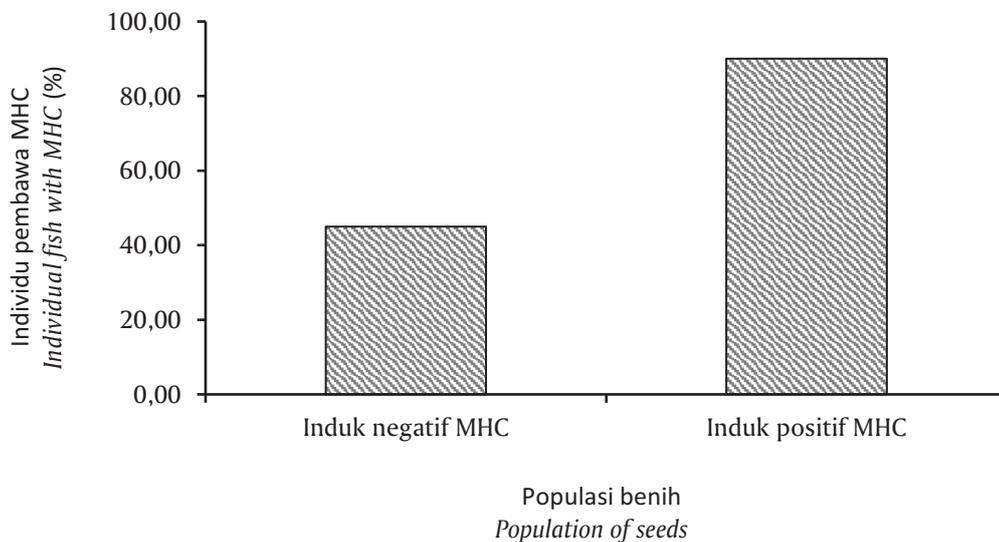
Contoh hasil elektroforesis pada identifikasi keberadaan gen MHC pada individu sampel ikan mas disajikan pada Gambar 1 dan hasil analisis persentase individu benih ikan mas yang membawa gen MHC disajikan pada Gambar 2. Pada Gambar 2 terlihat bahwa persilangan antara induk jantan dan betina positif MHC menghasilkan persentase benih yang membawa gen MHC lebih tinggi dibandingkan dengan persilangan antara induk jantan dan betina negatif MHC.

Tingginya persentase benih yang membawa gen MHC pada persilangan antara induk jantan dan betina positif MHC sebesar 90% diduga karena masing-masing induk bersifat homozigot positif MHC sehingga sebagian besar segregasi gamet pada turunannya membawa gen MHC. Pada populasi benih hasil persilangan induk jantan dan betina negatif MHC, adanya benih yang membawa gen MHC diduga diperoleh dari salah satu atau kedua tetuanya yang diduga bersifat heterozigot positif MHC. Hal ini mengindikasikan bahwa induk-induk yang terdeteksi negatif MHC belum tentu tidak mempunyai gen penyandi ketahanan terhadap penyakit tersebut. Gen MHC yang berada pada induk-induk tersebut tidak terdeteksi pada pengujian secara laboratorium diduga karena bersifat heterozigot. Hal ini mengakibatkan jumlah benih positif MHC pada hasil persilangan tersebut tidak terlalu banyak, yaitu 45%.



Gambar 1. Hasil elektroforesis identifikasi keberadaan gen MHC pada sampel benih ikan mas Rajadanu; Nomor 1-5 dan 7 merupakan individu positif MHC (300 bp) sedangkan nomor 6 merupakan individu negatif MHC. M: marker

Figure 1. Electrophoresis result for MHC identification in Rajadanu common carp strain; sample 1-5 and 7 represented the positive MHC and sample 6 represented negative MHC. M: marker



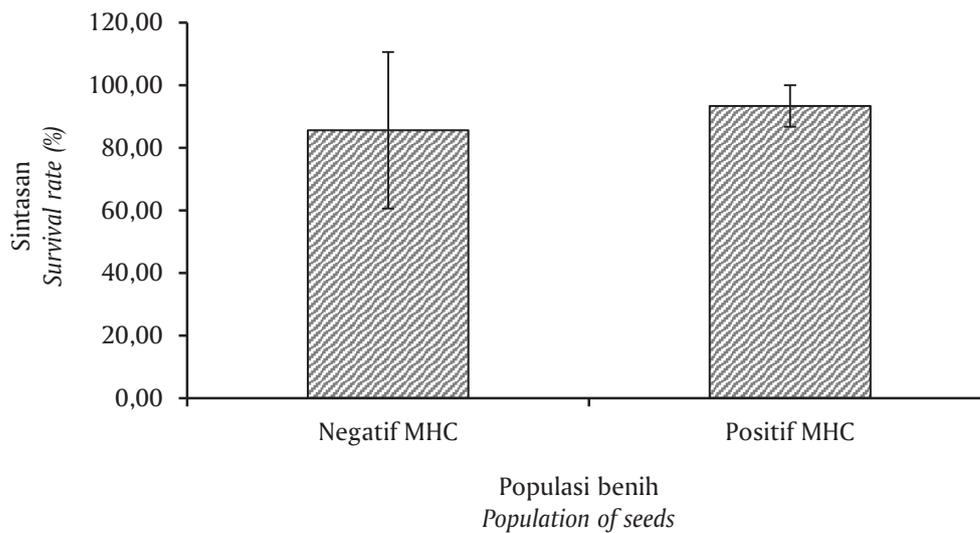
Gambar 2. Persentase benih ikan mas yang membawa gen MHC pada masing-masing persilangan ikan mas

Figure 2. The percentage of individual fish with MHC gene in each crossing of Rajadanu common carp

Evaluasi Daya Tahan Benih terhadap KHV

Hasil analisis ujiantang secara kohabitasi di laboratorium disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis menunjukkan bahwa populasi benih hasil persilangan

antara induk jantan dan betina positif MHC mempunyai nilai sintasan relatif lebih tinggi sebesar $93,33 \pm 6,67\%$ dibanding populasi benih hasil persilangan induk jantan dan betina negatif MHC sebesar $85,56 \pm 25,02\%$. Meskipun tidak berbeda secara nyata, namun hal ini



Gambar 3. Sintasan masing-masing populasi benih ikan mas pada uji tantang dengan KHV

Figure 3. Survival rate of each population of Rajadanu common carp in challenge tests with KHV

mengindikasikan bahwa populasi dengan persentase MHC lebih tinggi mempunyai daya tahan terhadap infeksi KHV lebih baik, ditandai dengan lebih tingginya nilai sintasan populasi tersebut pada uji tantang.

Gen MHC merupakan kandidat gen penanda (*marker gene*) pada studi ketahanan terhadap penyakit. Gen MHC mempunyai sejumlah gen polimorfik yang sudah diketahui berhubungan dengan imunitas. Masing-masing molekul gen MHC mempunyai kemampuan untuk bergabung dan menghadirkan peptida dari kelompok molekul yang berbeda secara sempurna maupun tidak. Hal ini menyebabkan respons imun pada organisme yang menerima turunan (*derivate*) peptida dari suatu penyakit tertentu, dapat diperoleh dari molekul MHC spesifik atau kemungkinan diperoleh dari molekul MHC yang lain. Jika respons imun diperoleh dari MHC yang tidak spesifik, hal ini dapat menyebabkan tingkat kerentanan yang tinggi dari organisme tersebut terhadap suatu penyakit tertentu, atau sebaliknya, jika respons imun diperoleh dari molekul MHC spesifik, akan meningkatkan resistansi organisme terhadap penyakit tersebut (Klein *et al.*, 2007). Hubungan antara resistansi pada penyakit dengan gen MHC yang sudah dipelajari adalah pada infeksi malaria pada manusia (Hill *et al.*, 1991) dan juga penyakit virus pada ayam (Briles *et al.*, 1977; Kaufman & Wallny, 1996). Namun demikian, pada ikan teleostei, secara genomik gen MHC mempunyai susunan yang berbeda. Di sini, gen MHC kelas I dan II berada pada kromosom berbeda dan bersegregasi

secara terpisah. Hal ini memungkinkan adanya asosiasi antara gen MHC kelas I atau MHC kelas II saja terhadap resistensi terhadap penyakit. Secara umum, dalam sebuah respons imun terhadap penyakit viral, derivat peptida virus yang berasal dari biosintesis *cytosolic* virus dihadirkan oleh molekul MHC kelas I menjadi *cytotoxic* pada CD8⁺ sel T. Sedangkan molekul MHC kelas II dapat menghadirkan derivat peptida virus dari degradasi pada bagian endosomal/lysosomal, menjadi CD4⁺ sel T. Proses-proses tersebut memacu produksi interveron yang mampu beraksi membendung penyebaran virus dan juga menstimulasi produksi antibodi spesifik. Meskipun hanya merupakan fraksi minor, antibodi ini mempunyai aktivitas langsung sebagai antivirus, di mana antibodi akan membantu mengontrol infeksi virus dengan mengaktifkan sistem komplemen, memfasilitasi fagositosis, dan mengaktifkan antibodi-bebas dari sel *cytotoxic*.

Beberapa hasil studi pada manusia dan tikus menjelaskan bahwa CD4⁺ sel T merupakan sesuatu hal yang penting dalam mengontrol infeksi herpesvirus (Heller *et al.*, 2006, Wiertz *et al.*, 2007). Studi pada herpesvirus tikus MHV-68 menunjukkan bahwa CD4⁺ sel T mampu mengontrol infeksi *in vivo*, independensi CD8⁺ sel T dan sel B (Christensen *et al.*, 1999). Hal ini juga menunjukkan bahwa kehadiran glycoprotein virus Epstein Barr (EBV) oleh molekul MHC kelas II mampu membunuh secara langsung virus tersebut yang menginfeksi sel B menggunakan CD4⁺ sel T (Landais *et al.*, 2004, Heller *et al.*, 2006). Dalam

penelitian ini, diduga persentase individu positif gen MHC yang lebih tinggi pada populasi ikan mas hasil persilangan induk jantan dan betina positif MHC mempunyai peranan yang signifikan terhadap peningkatan imun sistem pada tubuh ikan sehingga menghasilkan sintasan yang lebih baik dibandingkan populasi benih ikan hasil persilangan induk jantan dan betina negatif MHC.

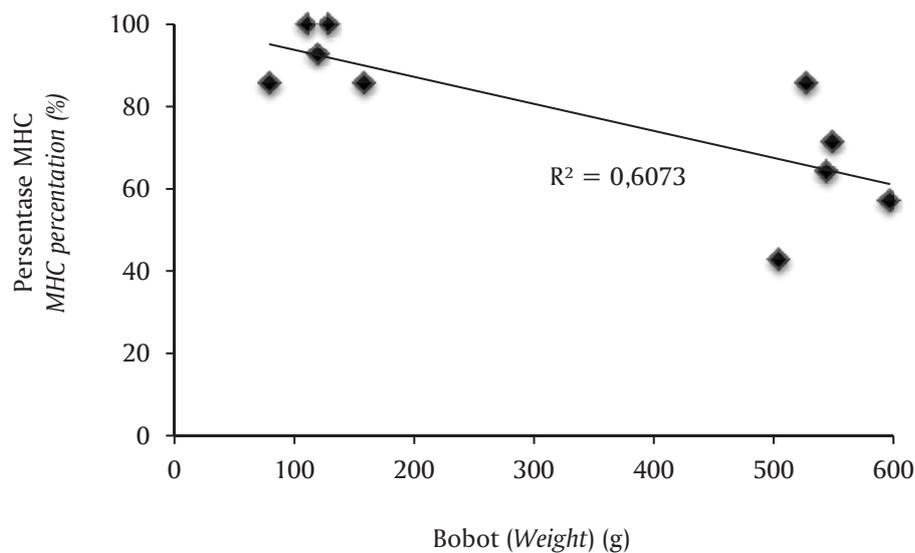
Evaluasi Hubungan Antara Pertumbuhan dengan Keberadaan Gen MHC

Hasil analisis hubungan antara bobot rata-rata individu dengan persentase individu yang positif MHC disajikan pada Gambar 4. Secara umum, hasil analisis menunjukkan bahwa populasi dengan bobot lebih tinggi (laju pertumbuhan cepat) mempunyai persentase MHC lebih rendah. Hasil analisis korelasi antara kedua parameter tersebut menunjukkan bahwa karakter bobot berkorelasi negatif (-0,779) dengan persentase MHC dalam populasi dengan nilai R² sebesar 0,607.

Bureau *et al.* (2002) menjelaskan bahwa dalam hukum kekekalan energi disebutkan bahwa jumlah total energi dalam suatu sistem bersifat tetap. Energi dapat ditransfer dari satu bagian ke bagian lainnya ataupun ditransformasi menjadi bentuk energi yang berbeda. Dalam konteks tersebut, total energi dalam sistem tubuh ikan terbagi-bagi untuk beberapa keperluan antara lain untuk sintasan tetap (*basal energy*), reproduksi, pertahanan terhadap perubahan

lingkungan termasuk penyakit, pertumbuhan, dan lainnya. Kebutuhan utama adalah untuk bertahan hidup kemudian reproduksi, pertahanan dan jika masih tersisa untuk pembentukan sel-sel baru yang disimpan dalam bentuk jaringan otot yang juga sebagai cadangan energi. Penimbunan jaringan otot tersebut yang kita kenal dengan pertumbuhan. Maka jika kebutuhan energi untuk pertahanan terhadap perubahan lingkungan maupun penyakit semakin besar, secara otomatis terjadi transaksi energi dari pertumbuhan menjadi energi untuk pertahanan.

Ditambahkan oleh Shoemaker *et al.* (2001) bahwa berdasarkan penelitian sebelumnya, keberadaan gen MHC pada ikan diduga mempunyai fungsi yang sama dengan gen MHC pada mamalia, yaitu sebagai gen yang bertugas mengeliminasi patogen dalam sel. Kemampuan pertahanan terhadap infeksi penyakit (imunitas) oleh gen MHC akan menstimulasi sel *T-helper* untuk memproduksi *cytokines* yang selanjutnya akan menstimulasi sel-sel *effector* (*cytotoxic lymphocytes*). *Cytokines* juga berperan dalam pembentukan sel-sel baru terkait rusaknya sel akibat infeksi penyakit. Selain itu, *cytokines* juga berperan dalam untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit dengan menstimulasi *macrophages* untuk meningkatkan kemampuan membunuh jasad patogen sehingga menurunkan kemampuan infeksiusnya. Ditambahkan bahwa *cytokines* tersebut adalah polipeptida sederhana atau glikoprotein yang beraksi sebagai molekul signal pada sistem imun tubuh. Sistem pertahanan



Gambar 4. Hubungan antara kelompok ikan dengan bobot badan berbeda dengan persentase gen MHC pada populasi ikan mas strain Rajadanu
 Figure 4. Relationship between the different body weight of fish group and percentage of individual fish with MHC-II in Rajadanu common carp strain

terhadap penyakit yang melibatkan gen MHC, *cytokines*, *macrophages*, dan lainnya ini juga membutuhkan energi yang akhirnya berdampak terhadap jumlah energi yang tersisa untuk ditimbun sebagai jaringan otot sehingga secara fenotipe terlihat bahwa laju pertumbuhannya semakin rendah.

Evaluasi Keragaan Benih Ikan Mas di Lingkungan Budidaya

Hasil evaluasi keragaan populasi benih ikan mas hasil persilangan induk jantan dan betina yang positif maupun negatif MHC di kolam air deras wilayah endemik KHV disajikan pada Tabel 1.

Keragaan kedua populasi benih ikan mas yang dipelihara di kolam air deras endemik KHV di wilayah Subang, Jawa Barat menunjukkan kecenderungan yang berbeda antara lain pada laju pertumbuhan, tingkat sintasan, bobot rata-rata, dan biomassa total pada waktu panen. Kecenderungan ini mengindikasikan adanya pengaruh keberadaan gen MHC pada suatu populasi terhadap keragaan populasi tersebut. Meskipun bobot rata-rata benih ikan mas positif MHC lebih rendah dibanding populasi benih negatif MHC, tetapi populasi tersebut mempunyai tingkat sintasan lebih tinggi sehingga berdampak terhadap biomassa total pada waktu panen yang lebih baik.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan korelasi positif antara karakter pertumbuhan dengan daya tahan terhadap penyakit, misalnya pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Overturf *et al.*, 2010) dan ikan gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) (Antonelo

et al., 2009). Namun demikian, beberapa penelitian lainnya menunjukkan tidak adanya korelasi antara kedua karakter tersebut seperti pada ikan cod Atlantik (Bangera *et al.*, 2011), bahkan menunjukkan korelasi negatif seperti pada ikan mas di Rusia (Kirpichnikov *et al.*, 1993). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keberadaan marka molekuler MHC berkorelasi positif terhadap daya tahan ikan mas Rajadanu tetapi berdampak terhadap penurunan laju pertumbuhan populasi tersebut. Hasil uji lapangan ini sesuai dengan hasil uji tantang benih di laboratorium yang menunjukkan bahwa populasi positif MHC mempunyai daya tahan terhadap penyakit lebih baik dibanding populasi negatif MHC. Wetten *et al.* (2007) juga melaporkan hal yang sama pada ikan salmon Atlantik yang menunjukkan bahwa terdapat korelasi positif antara hasil uji skala lapang pada daerah endemik penyakit IPN (*infectious pancreatic necrosis*) dengan uji tantang di laboratorium.

KESIMPULAN

Populasi ikan mas hasil pemijahan induk jantan dan betina positif *MHC-II* mempunyai persentase *MHC-II* sebesar 90%, lebih banyak dibanding populasi hasil pemijahan induk jantan dan betina negatif *MHC-II* sebesar 40% dan berdasarkan uji tantang secara laboratoris mempunyai daya tahan terhadap infeksi KHV 8,95% lebih tinggi dibanding populasi negatif *MHC-II*. Hasil pengujian secara lapang di daerah endemik KHV menunjukkan bahwa populasi positif *MHC-II* mempunyai sintasan 41,61% lebih baik dibanding populasi negatif *MHC-II*.

Tabel 1. Keragaan populasi benih ikan mas dari induk jantan dan betina positif dan negatif MHC yang dipelihara di kolam air deras endemik KHV selama tiga bulan

Table 1. The performance seed of Rajadanu common carp strain from the broodstock which had positive and negative MHC-II gene reared in endemic KHV disease running water pond for three months

Parameter Parameters	MHC	
	Positif (Positive)	Negatif (Negative)
Laju pertumbuhan spesifik (%/hari) Specific growth rate (%/days)	2.90±0.49	3.05±0.21
Sintasan Survival rate (%)	25.33±9.77	17.89±11.74
Rasio konversi pakan Feed conversion ratio	3.12±1.45	3.25±1.82
Bobot rata-rata Average weight (g)	89.46±33.79	105.37±27.73
Biomassa total Total biomass (g)	6.462.08±3.036.20	5.499.62±3.183.77

Analisis hubungan antara keberadaan gen *MHC-II* sebagai indikasi ketahanan terhadap penyakit khususnya KHV dengan pertumbuhan di kolam air deras menunjukkan bahwa populasi ikan mas Rajadanu dengan persentase *MHC-II* lebih tinggi mempunyai sintasan lebih tinggi tetapi mempunyai laju pertumbuhan lebih lambat.

DAFTAR ACUAN

- Anonim. (1999). Statistik perikanan Indonesia 1996. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta.
- Anonim. (2010a). Laporan kegiatan pengembangan ikan mas di BBP BAT, Sukabumi. Naskah disampaikan pada Temu Jejaring Pengembangan Induk Ikan Mas Nasional. Sukabumi, 9-11 November 2010.
- Anonim. (2010b). Protokol pemuliaan ikan mas. Pusat Pengembangan Induk Ikan Mas Nasional. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Kementerian Kelautan dan Perikanan. 39 hlm.
- Antonello, J., Massault, C., Franch, R., Haley, C., Pellizzari, C., Patarnello, T., de Koning, D., & Bargelloni, L. (2009). Estimates of heritability and genetic correlation for body length and resistance to fish pasteurellosis in the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 298, 29-35.
- Ariyanto, D., Hayuningtyas, E.P., & Syahputra, K. (2010a). Koleksi dan karakterisasi populasi ikan mas sebagai bahan pembentuk ikan mas tahan KHV. *Seminar Hasil Penelitian LRPTBPAT tahun 2010*. Sukamandi, 13-14 Desember 2010.
- Ariyanto, D., Hayuningtyas, E.P., & Syahputra, K. (2010b). Evaluasi daya tahan lima strain ikan mas terhadap KHV. *Seminar Hasil Penelitian LRPTBPAT tahun 2010*. Sukamandi, 13-14 Desember 2010.
- Ariyanto, D., Hayuningtyas, E.P., & Syahputra, K. (2010c). Pembentukan populasi dasar ikan mas tahan KHV. *Seminar Hasil Penelitian LRPTBPAT tahun 2010*. Sukamandi, 13-14 Desember 2010.
- Bangera, R., Ødegård, J., Præbel, A.K., Mortensen, A., & Nielsen, H.M. (2011). Genetic correlations between growth rate and resistance to vibriosis and viral nervous necrosis in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture*, 317, 67-73.
- Briles, W.E., Stone, H.A., & Cole, R.K. (1977). Marek's disease: effects of B histocompatibility alloalleles in resistant and susceptible chicken lines. *Science*, 195, 193-5.
- Bureau, D.P., Kaushik, S.J., & Cho, C.Y. (2002). Bioenergetics. In Halver, J.E., & Hardy, R.W. (Eds.). *Fish Nutrition*. Elsevier Science. USA, p. 1-59.
- Christensen, J.P., Cardin, R.D., Branum, K.C., & Doherty, P.C. (1999). CD4 β T cell-mediated control of a gamma-herpesvirus in B cell-deficient mice is mediated by IFN γ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 5135-40.
- Heller, K.N., Gurer, C., & Mu'nz, C. (2006). Virus-specific CD4 β T cells: ready for direct attack. *J. Exp. Med.*, 203, 805-8.
- Hill, A.V.S., Allsopp, C.E.M., Kwiatkowski, D., Anstey, N.M., Twumasi, P., & Rowe, P.A. (1991). Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*, 352, 595-600.
- Kaufman, J., & Wallny, H.J. (1996). Chicken MHC molecules, disease resistance and the evolutionary origins of birds. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 212, 129-41.
- Kirpichnikov, V.S., Ilyasov, J.I., Shart, L.A., Vikhman, A.A., Ganchenko, M.V., Ostashevky, A.L., Simonov, V.M., Tikhonov, G.F., & Tjurin, V.V. (1993). Selection of Krasnodar common carp (*Cyprinus carpio* L.) for resistance to dropsy: principal, results and prospects. *Aquaculture*, 111, 7-20.
- Klein, J., Sato, A., & Nikolaidis, N. (2007). MHC, TSP, and origin of species: from immunogenetics to evolutionary genetics. *Annu. Rev. Genet.*, 41, 281-304.
- Landais, E., Saulquin, X., Scotet, E., Trautmann, L., Peyrat, M.A., & Yates, J.L. (2004). Direct killing of Epstein-Barr virus (EBV)-infected B cells by CD4 T cells directed against EBV lytic protein BHRF1. *Blood*, 103, 1408-16.
- Overturf, K., Lapatra, S., Towner, R., Campbell, N., & Narum, S. (2010). Relationships between growth and disease resistant in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Disease*, 33(4), 321-329.
- Rakus, K.L., Wiegertjes, G.F., Adamek, M., Bekh, V., Stet, R.J.M., & Irnazarow, I. (2008). Application of PCR-RF-SSCP to study major histocompatibility class II B polymorphism in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 24, 734-744.
- Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., & Lim, C. (2001). Immunity and disease resistance in fish. In Lim, C., & Webster, C.D. (Eds.). *Nutrition and Fish Health*. The Howard Press. Binghamton. New York, p. 149-162.
- Wetten, M., Aasmundstad, T., Kjølglum, S., & Storset, A. (2007). Genetic analysis of resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 272, 111-117.
- Wiertz, E.J., Devlin, R., Collins, H.L., & Rensing, M.E. (2007). Herpesvirus interference with major histocompatibility complex class II-restricted T-cell activation. *J. Virol.*, 81, 4389-96.

